

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

Jarak pagar (*Jatropha curcas*) merupakan salah satu tanaman dari family Euphorbiaceae yang tumbuh di negara beriklim tropis dan subtropis, tanaman ini dimanfaatkan masyarakat sebagai obat tradisional disamping sebagai bahan bakar dan minyak pelumas.

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

Kedudukan tanaman dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
Sub kelas	: Rosidae
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha curcas</i> L. (Astuti,2008)



Gambar 2.1 Pohon Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)
(Susilowati, 2014)

2.1.2 Nama Daerah

Tanaman jarak pagar memiliki beberapa nama daerah antara lain jarak budeg, jarak gundul, jarak cina (Jawa); baklawah, nawaih (NAD); dulang (Batak); jarak kosta (Sunda); jarak kare (Timor); peleng kaliki (Bugis); kalekhe paghar

(Madura); jarak pager (Bali); lulu mau, paku kase, jarak pageh (Nusa Tenggara); kuman nema (Alor); jarak kosta, jarak wolanda, bindalo, bintalo, tondo utomene (Sulawesi); dan ai huwa kamala, balacai, kadoto (Maluku) (Heyne.,1987).

2.1.3 Morfologi Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) berbentuk perdu dengan tinggi 1-7 meter. Penggambaran umum morfologi tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) adalah sebagai berikut:

(a) Daun



Gambar 2.2 Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)
(Susilowati, 2014)

Daun jarak pagar cukup besar, panjang helai daun berkisar antara 6 – 16 cm dan lebar 5 – 15 cm, warna daun hijau (permukaan bagian bawah lebih pucat dibanding bagian atas). Panjang tangkai daun antara 4–15 cm. Helaian daun berbentuk bulat telur dengan pangkal berbentuk jantung, bersudut atau berlekuk.

(b) Batang



Gambar 2.3 Batang Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)
(Susilowati, 2014)

Batangnya berkayu, silindris, kulit batang berwarna keabu-abuan, apabila ditoreh, batang mengeluarkan getah seperti lateks yang berwarna putih atau kekuning-kuningan.

(c) Bunga



Gambar 2.4 Bunga Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)
(Susilowati, 2014)

Bunga berwarna kuning kehijauan, berupa bunga majemuk. Bunga jantan dan bunga betina tersusun dalam rangkaian berbentuk cawan, muncul di ujung batang. Bunga muncul saat berumur 3 – 4 bulan. Panjang tangkai bunga antara 6 – 23 mm. Daun kelopak berjumlah 5 helai, berbentuk bulat telur, dengan ukuran panjang 4 mm. Bunga berbentuk lonceng dengan mahkota bunga berjumlah 5 helai.

(d) Buah



Gambar 2.5 Buah Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)
(Susilowati, 2014)

Buah tersusun dalam tandan buah. Bentuk buah bulat atau bulat telur, berukuran panjang 2 – 3 cm. Buah berbentuk bulat telur, diameter 2–4 cm,

berwarna hijau ketika masih muda dan kuning jika masak. Buah jarak terbagi 3 ruang yang masing – masing ruang diisi 3 biji.

(e) Biji



Gambar 2.6 Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)
(Susilowati, 2014)

Ukuran panjang biji rata-rata 18 mm dan lebar rata-rata 10 mm serta bercangkang tipis (Henning, 2004). Jika belum tua, warna biji lebih cerah atau kecoklat-coklatan dengan permukaan halus. Jika kulit buah telah kering, biji dapat terlepas sendiri dari buah. Biji matang ditandai dengan perubahan warna kulit buah dari hijau menjadi kuning. Biji berbentuk bulat lonjong, warna coklat kehitaman.

(f) Akar



Gambar 2.7 Akar Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)
(Susilowati, 2014)

Saat biji berkecambah, muncul 3 – 5 helai akar yang selanjutnya berkembang menjadi akar tunggang setelah tanaman dewasa. Dari akar tunggang muncul akar lateral yang melebar ke samping dan rambut-rambut akar yang cukup banyak. Umumnya akar-akar muda terletak di bawah lingkaran kanopi terluar dari tanaman.

2.1.4 Kandungan Senyawa Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ekundayo *et al* (2011), ekstrak etanol daun dan kulit batang *Jatropha curcas* memiliki kandungan metabolit sekunder sebagai berikut: (Tabel II.1.)

Tabel II.1. Kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun dan kulit batang *Jatropha curcas* (Ekundayo *et al*, 2011)

Metabolit Sekunder	Jumlah Fitokimia Yang Ada (mean \pm SD)	
	Daun	Kulit batang
Tanin	23,1 \pm 0,1	25,4 \pm 0,1
Phlobatanin	4,3 \pm 0,1	5,1 \pm 0,1
Saponin	16,1 \pm 0,1	14,3 \pm 0,1
Flavonoid	8,2 \pm 0,1	11,0 \pm 0,1
Steroid	22,1 \pm 0,1	20,2 \pm 0,1
Terpenoid	-	0,2 \pm 0,3
Glikosida jantung	3,9 \pm 0,1	4,3 \pm 0,1
Alkaloid	10,0 \pm 1,2	12,0 \pm 0,2
Antrakuinon	0,1 \pm 0,0	1,1 \pm 0,3
Fenol total	0,2 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2

- = Tidak ada

Skrining fitokimia ekstrak etanol, metanol dan air kulit batang *Jatropha curcas* mengungkapkan adanya kandungan metabolit sekunder seperti saponin, steroid, tanin, glikosida, alkaloid, dan flavonoid (Igbinsosa, 2009).

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) dalam penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Andriani (2015), bahwa ekstrak etanol kulit batang jarak pagar mempunyai kandungan senyawa metabolit sekunder, yaitu terpenoid, flavonoid, alkaloid, polifenol dan antrakuinon.

2.1.5 Habitat Dan Distribusi Geografis

Jarak pagar tumbuh pada kondisi lingkungan didaerah sangat kering dengan curah hujan 300 – 700 mm/tahun. Jarak pagar dapat tumbuh pada daerah ketinggian 0 – 800 meter diatas permukaan laut, dengan suhu rata-rata 20°C – 35°C, PH tanah yang sesuai untuk tanaman ini adalah 5,0 – 6,2.

2.1.6 Manfaat Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas*)

Tanaman *Jatropha curcas* banyak digunakan dalam pengobatan tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti infeksi kulit, diare, demam dan beberapa penyakit lain yang disebabkan oleh mikroorganisme. Biji tumbuhan

jarak dapat dijadikan sebagai bahan bakar ramah lingkungan. Daun jarak pagar sering digunakan untuk mengobati reumatik, terkilir, luka berdarah, gatal gatal, kutu air. Sedangkan sari pati cairan daunnya digunakan sebagai obat batuk dan antiseptik pasca melahirkan. Getah tumbuhan jarak pagar dapat digunakan untuk mengobati kudis, sembelit dan sakit gigi (Mahmud, 2007).

Tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki beberapa manfaat terkait dengan berbagai kandungan fitokimia yang dimilikinya. Ekundayo (2011), menjelaskan bahwa ekstrak etanol kulit batang *Jatropha curcas* memiliki aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 20 mg/ml terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2.1.7 Tinjauan Aktivitas Antibakteri Tanaman *Jatropha curcas*

Menurut penelitian yang dilakukan Ekundayo (2011), aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit batang *Jatropha curcas* terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode difusi agar well. Hasilnya menunjukkan dapat memberikan aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 20 mg/ml dengan diameter zona hambat pada *Staphylococcus aureus* 30,6 mm dan *Escherichia coli* 36,3 mm. Hasil skrining fitokimia mengungkapkan adanya kandungan metabolit sekunder yaitu saponin, steroid, tanin, glikosida, alkaloid, terpenoid, antrakuinon, dan flavonoid dalam ekstrak kulit batang *Jatropha curcas*. Kemampuan ekstrak kulit batang *Jatropha curcas* untuk menghambat pertumbuhan bakteri merupakan indikasi potensi antimikroba yang dapat digunakan dalam pengobatan infeksi mikroba.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nyembo (2012), ekstrak metanol daun dan kulit akar *Jatropha curcas* memiliki aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi cakram. Hasilnya menunjukkan dapat memberikan aktivitas antibakteri pada ekstrak metanol daun dengan konsentrasi 500 µg/disc dengan diameter zona hambat pada *Staphylococcus aureus* 15 mm dan *Escherichia coli* 14 mm, sedangkan pada ekstrak metanol kulit akar menunjukkan diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* 20 mm dan *Escherichia coli* 16 mm. Kadar Hambat Minimum (KHM) menunjukkan ekstrak metanol daun *Jatropha curcas* pada *Staphylococcus aureus*

dan *Escherichia coli* masing-masing 5,0 mg/ml, sedangkan ekstrak metanol kulit akar pada *Staphylococcus aureus* 1,0 mg/ml dan *Escherichia coli* 5,0 mg/ml.

2.2 Tinjauan Tanaman Alpukat (*Persea americana*)

Tanaman alpukat (*Persea americana*) berasal dari daratan rendah dan dataran tinggi Amerika Tengah. Bangsa Spanyol yang menjajah kedua negara tersebut menyebarkan tanaman ini ke seluruh dunia. Tanaman ini masuk ke Indonesia pada abad ke-19 dan dibawa oleh bangsa Belanda. Secara resmi antara tahun 1920-1930, Indonesia mengintroduksi 20 varietas alpukat dari Amerika Tengah dan Amerika Serikat. Pada awalnya pengembangan alpukat terkonsentrasi di pulau Jawa, namun saat ini telah menyebar di hampir seluruh provinsi di Indonesia (Rukmana, 1997).

2.2.1 Klasifikasi Tanaman Alpukat (*Persea americana*)

Kedudukan tanaman alpukat dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Ranales
Keluarga	: Lauraceae
Marga	: Persea
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mil (Cronquist, 1981)



Gambar 2.8 Tanaman Alpukat (*Persea americana*)
(Aspan *et al.*, 2008)

2.2.2 Nama Daerah

Persea berasal dari bahasa Yunani artinya suatu pohon yang manis buahnya. Dalam perkembangan, nama alpukat beragam di berbagai negara atau daerah, antara lain: advocoat (Belanda), avocat (Prancis), ahuaca-te atau aguacate (Spanyol), avocado (Inggris), jamboo pokat (Batak), pookat (Lampung), alpuket atau alpukat (Jawa Barat), alpokat (Jawa Tengah dan Jawa Timur), apokat atau jambu wolanda (sebutan di daerah lain) (Rukmana, 1997).

2.2.3 Morfologi Tanaman Alpukat (*Persea americana*)

Tanaman alpukat tumbuh liar di hutan-hutan, tinggi pohon alpukat 3-10 m, namun dapat mencapai 20 m. Tanaman ini dapat berbuah di dataran rendah pada ketinggian 200-1.000 m di atas permukaan laut.

a. Batang dan Akar



Gambar 2.9 Batang Alpukat (*Persea americana*)
(Aspan *et al.*, 2008)

Batang berkayu berwarna coklat bercabang banyak, ranting berambut halus. Tanaman alpukat memiliki dua jenis akar, yaitu akar tunggang dan memiliki akar rambut. Rambut pada akar tanaman alpukat hanya sedikit sehingga pemupukan harus dilakukan dengan cara yang benar. Pupuk harus diletakkan sedekat mungkin dengan akar sehingga pupuk ditanam dengan kedalaman 30 – 40 cm disekitar tanaman. Batang tanaman alpukat biasanya digunakan sebagai pengembangan bibit, penyambungan dan okulasi (Depkes RI, 1996)

b. Daun



Gambar 2.10 Daun Alpukat (*Persea americana*)
(Aspan *et al.*, 2008)

Daun tunggal, bertangkai yang panjangnya 1,5-5 cm, letaknya berdesakan di ujung ranting, bentuknya jorong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal runcing, tepi rata kadang-kadang agak menggulung keatas, bertulang menyirip, panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm, daun muda warnanya kemerahan dan berambut rapat, daun tua warnanya hijau dan gundul (Depkes RI, 1996).

c. Bunga



Gambar 2.11 Bunga Alpukat (*Persea americana*)
(Aspan *et al.*, 2008)

Bunga alpukat bersifat sempurna (*hermaprodit*), tetapi sifat pembungaannya *dichogamy*, artinya tiap bunga mekar 2 kali berselang, menutup antara 2 mekar dalam waktu berbeda. Pada hari mekar pertama, bunga betina yang berfungsi sedangkan pada hari mekar berikutnya bunga jantan yang berfungsi. Berdasarkan sifat pembungaannya, tanaman alpukat dibedakan menjadi 2 tipe. Tipe A: bunga betina mekar pada pagi hari sedangkan bunga jantan mekar pada sore hari pada hari berikutnya. Tipe B: bunga betina mekar pada sore hari dan bunga jantan mekar pada pagi hari berikutnya (Depkes RI, 1996).

d. Buah



Gambar 2.12 Buah Alpukat (*Persea americana*)
(Aspan *et al.*, 2008)

Buah alpukat jenis unggul berbentuk lonjong, bola atau bulat telur dan bulat tidak simetris, panjang 9 – 11,5 cm, memiliki massa 0,25 – 0,38 kg, Biasanya warna buah alpukat bervariasi dari warna hijau tua hingga hijau kekuningan dengan tekstur lembut. Buah alpukat berbiji satu dengan bentuk seperti bola berdiameter 6,5 – 7,5 cm, keping biji berwarna putih kemerahan (Depkes RI, 1996).

2.2.4 Kandungan Senyawa Alpukat (*Persea americana*)

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Thakira (2012), memaparkan ekstrak daun *Persea americana* memiliki kandungan metabolit sekunder, antara lain flavonoid, triterpenoid, antrakuinon, dan alkaloid.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Arukwe *et al* (2012), dihasilkan data kandungan fitokimia pada daun, buah dan biji (kandungan fitokimia tiap 100 g simplisia) sebagai berikut :

Tabel II.2.Kandungan senyawa alpukat (Arukwe *et al.*, 2012)

Konstituen	Daun (mg)	Buah (mg)	Biji (mg)
Saponin	1.29±0.08	0.14±0.01	19.21±2.81
Tannin	0.68±0.06	0.12±0.03	0.24±0.12
Flavonoid	8.11±0.14	4.25±0.16	1.90±0.07
Alkaloid	0.51± 0.21	0.14±0.00	0.72±0.12
Fenol	3.41± 0.64	2.94±0.13	6.14±1.28
Steroids	1.21±0.14	1.88±0.19	0.09±0.00

Kandungan senyawa pada daun, buah dan biji alpukat tidak memiliki banyak perbedaan. Namun kadar flavonoid tertinggi terdapat dalam daun alpukat. Kandungan flavonoid yang tinggi berpotensi sebagai agen antibakteri dan anti-inflamasi (Arukwe *et al*, 2012). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri

adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria *et al.*, 2009). Kadar saponin tertinggi terdapat dalam biji alpukat. Senyawa saponin dapat bertindak sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan kerusakan komponen-komponen penyusun sel bakteri (Brooks *et al.*, 2005).

2.2.5 Habitat dan Distribusi Geografis

Tanaman alpukat (*Persea americana*) tumbuh di daerah tropis dan subtropis dengan curah hujan 1.800 - 4.500 mm/tahun. Umumnya tumbuhan ini cocok dengan iklim sejuk dan basah, tetapi tidak tahan terhadap suhu rendah maupun tinggi. Di Indonesia, alpukat tumbuh pada ketinggian tempat 1 - 1.000 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini dapat tumbuh liar di hutan, atau ditanam di kebun atau pekarangan yang lapisan tanahnya gembur dan subur serta tidak tergenang air (Depkes RI, 1978).

2.2.6 Manfaat Alpukat (*Persea americana*)

Dalam dunia pengobatan, tumbuhan alpukat telah banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Daging buah alpukat dapat digunakan untuk mengurangi rasa sakit dan mengobati sariawan. Daun alpukat digunakan untuk mengobati penyakit batuk, diare, dan bronkitis. Selain buah dan daunnya, biji buah alpukat juga dapat digunakan untuk mengurangi kadar gula dalam darah (Hariana, 2004).

Tanaman alpukat (*Persea americana*) memiliki beberapa manfaat terkait dengan berbagai kandungan fitokimia yang dimilikinya. Haro *et al.* (2011), menjelaskan bahwa ekstrak etanol daun *Persea americana* dapat memberikan aktivitas antibakteri dengan konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 70 mg/ml terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan 50 mg/ml terhadap bakteri *Escherichia coli*. Selain itu, Kolawole *et al.* (2012) menjelaskan bahwa ekstrak metanol daun *Persea americana* dengan dosis 20 mg/kgBB dan 40 mg/kgBB memiliki aktivitas hiperlipidemia. Sedangkan Mardiyaningsih dan Ismiyati (2014), melaporkan bahwa daun *Persea americana* memiliki kemampuan sitotoksik terhadap kanker leher rahim HeLa.

2.2.7 Tinjauan Aktivitas Antibakteri Tanaman Alpukat (*Persea americana*)

Menurut Haro *et al.* (2011), ekstrak etanol daun *Persea americana* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* secara in vitro dengan metode difusi agar menggunakan alat pencetak lubang (punch hole). Penelitian ini menggunakan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) berturut-turut adalah 70 mg/ml, 60 mg/ml, 10 mg/ml, dan 50 mg/ml. Hasilnya menunjukkan dapat memberikan aktivitas antibakteri pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) untuk menghambat *Staphylococcus aureus* adalah 70 mg/ml dengan diameter zona hambat 9,25 mm, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) untuk menghambat *Streptococcus pyogenes* adalah 60 mg/ml dengan diameter zona hambat 9,42 mm, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) untuk menghambat *Pseudomonas aeruginosa* adalah 10 mg/ml dengan diameter zona hambat 9,13 mm, dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) untuk menghambat *Escherichia coli* adalah 50 mg/ml dengan diameter zona hambat 9,33 mm.

Menurut Anggrella *et al.* (2014), bahwa ekstrak biji *Persea americana* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Pengujian dilakukan dengan metode sumuran dan 10 perlakuan dengan konsentrasi ekstrak biji *Persea americana* yaitu 0,1%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, kontrol positif (kloramfenikol) dan kontrol negatif (aquades). Hasil uji profil fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak biji *Persea americana* mengandung tanin dan flavonoid. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) untuk menghambat bakteri *Escherichia coli* adalah 0,4% dengan diameter zona hambat sebesar 0,05 cm, sedangkan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 0,2% dengan diameter zona hambat sebesar 0,08 cm.

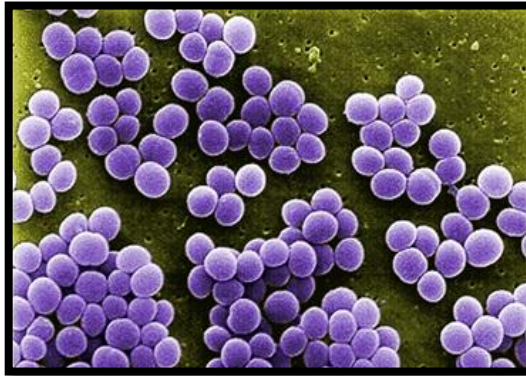
2.3 Tinjauan Umum Tentang Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.3.1 Klasifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales

Famili : Staphylococcaceae
 Genus : Staphylococcus
 Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.13 Bakteri *Staphylococcus aureus*
 (Volk dan Wheeler, 1989)

2.3.2 Sinonim

Staphylococcus phyogenes aureus, *staphylococcus phyogenes var aureus*, *micrococcus phyogenes var, aureus*, *micrococcus phyogenes var, albus*.

2.3.3 Morfologi Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.3.3.1 Ciri-Ciri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, bersifat fakultatif anaerob, tidak menghasilkan spora, tidak bergerak, tumbuh bergerombol atau berkelompok yang tidak teratur seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* mengandung protein dan kapsul polisakarida yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel bakteri. (Jawetz *et al.*, 2007).

2.3.3.2 Sifat Biakan

Bakteri *Staphylococcus aureus* tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau (Jawetz *et al.*, 2012).

2.3.3.3 Sifat Pertumbuhan

Staphylococcus aureus dapat meragikan karbohidrat dengan membentuk asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan panas (tahan terhadap suhu 50° C selama 30 menit) dan

NaCl 9% tetapi mudah dihambat oleh bahan kimia tertentu seperti heksaklorofen (Jawetz *et al.*, 2012).

2.3.3.4 Sifat Biokimia

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit melalui kemampuan berkembangbiak serta menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan zat-zat ekstraseluler yaitu katalase, koagulase, faktor penggumpal, enzim, eksotoksin, enterotoksin, leukosidin, dan eksfoliatif (Jawetz *et al.*, 2012).

2.3.4 Patogenesis Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* telah lama dikenal sebagai salah satu bakteri paling penting yang menyebabkan penyakit pada manusia. Hal ini adalah penyebab utama infeksi kulit dan jaringan lunak seperti abses (bisul), dan selulitis. Meskipun sebagian besar infeksi tidak serius, *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi serius seperti infeksi aliran darah, pneumonia, atau infeksi tulang dan sendi.

Berdasarkan *Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance* dari WHO (2014), menyatakan bahwa kasus resistensi *Staphylococcus aureus* terutama terhadap Methicillin atau dikenal dengan *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) di negara Asia Tenggara cukup tinggi, yaitu sekitar 80,6%. *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan untuk beradaptasi dengan lingkungan yang berbeda dan mungkin berkoloni di kulit manusia, kuku, lubang hidung dan selaput lendir dan mungkin dengan cara demikian menyebar diantara populasi penerima *host* melalui kontak fisik dan udara. Kolonisasi *Staphylococcus aureus* merupakan faktor risiko penting untuk infeksi *Staphylococcus aureus* berikutnya.

2.4 Tinjauan Umum Tentang Bakteri *Escherichia coli*

2.4.1 Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Class	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Genus	: <i>Escherichia coli</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>



Gambar 2.14 Bakteri *Escherichia coli*

(Jawetz *et al.*, 2008)

2.4.2 Morfologi dan Identifikasi *Escherichia coli*

2.4.2.1 Ciri-ciri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang dan tidak bergerak, fakultatif anaerob, penghuni normal usus besar (Jawetz *et al.*, 2001). Struktur sel *Escherichia coli* dikelilingi oleh membran sel terdiri dari sitoplasma yang mengandung nukleoprotein. Membran sel *Escherichia coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan pili *Escherichia coli* menjulur dari permukaan sel (Suparno, 2013).

2.4.2.2 Sifat Biakan dan Sifat Pertumbuhan

Suhu pertumbuhan optimum *Escherichia coli* adalah 37°C, tetapi juga dapat tumbuh pada kisaran temperatur 15-45°C dengan suhu optimum 37°C, pH optimum pertumbuhan adalah 7.0-7.5. Oleh karena itu, bakteri tersebut dapat hidup pada tubuh manusia dan vertebrata lainnya. Bakteri *Escherichia coli* memiliki sifat yang sangat sensitif terhadap panas dan dapat diinaktifkan pada suhu pasteurisasi (Suparno, 2013).

2.4.2.3 Sifat Biokimia

Escherichia coli merupakan penyebab infeksi saluran kemih yang paling sering pada sekitar 90% infeksi saluran kemih pertama pada wanita muda. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering berkemih, dysuria hematuria, dan nyeri pinggang ditimbulkan oleh infeksi saluran kemih bagian atas. (Jawetz *et al.*, 2007).

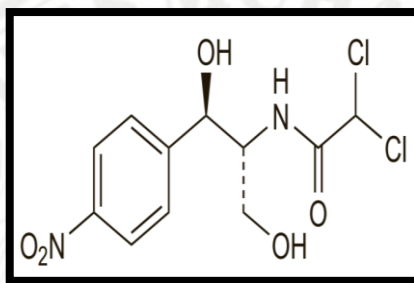
2.4.3 Patogenitas Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri yang sering ditemukan dalam usus manusia dan hewan. Kebanyakan *Escherichia coli* tidak berbahaya dan merupakan bagian penting dari saluran usus manusia. Namun, beberapa

Escherichia coli adalah patogen, karena dapat menyebabkan penyakit diare atau saluran pencernaan.

Hasil penelitian dari studi *Antimicrobial Resistance in Indonesia* (AMRIN study) terbukti dari 2494 individu di masyarakat, 43% *Escherichia coli* resisten terhadap berbagai jenis antibiotik antara lain ampisilin (34%), kotrimoksazol (29%), dan kloramfenikol (25%). Hasil penelitian 781 pasien yang dirawat di rumah sakit didapatkan 81% *Escherichia coli* resisten terhadap beberapa jenis antibiotik yaitu ampisilin (73%), kotrimoksazol (56%), kloramfenikol (43%), siprofloksasin (22%), dan gentamisin (18%).

2.5 Tinjauan Tentang Kloramfenikol



Gambar 2.15 Struktur Kloramfenikol
(Sweetman, 2009)

Antibiotik pada awalnya didefinisikan sebagai zat, yang diproduksi oleh salah satu mikroorganisme, yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Munculnya metode sintetik yang menghasilkan modifikasi definisi ini dan antibiotik sekarang mengacu untuk zat yang diproduksi oleh mikroorganisme, atau zat yang sama (diproduksi sepenuhnya atau sebagian oleh sintesis kimia) yang dalam konsentrasi rendah menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya. Kloramfenikol berkhasiat sebagai antibiotika *broad spectrum* (spektrum luas) dan bersifat bakteriostatik untuk sebagian bakteri gram positif dan gram negatif serta bersifat bakterisid untuk beberapa bakteri lainnya (Tjay *et al*, 2007). Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas pertama yang ditemukan dan membuktikan mampu dalam mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri gram positif dan gram negatif (Martindale, 2009). Sebagian besar bakteri gram positif dihambat pada konsentrasi 1-10 µg/mL, sementara kebanyakan bakteri gram negative dihambat pada konsentrasi 0,2-5 µL/mL (Katzung, 2004).

Kloramfenikol berupa hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang, putih sampai putih kelabu atau putih kekuningan tidak berbau rasa sangat pahit. Mempunyai kelarutan larut dalam lebih kurang 400 bagian air, larut dalam etanol 95% dalam kloroform P dan dalam eter P (Farmakope Indonesia IV, 1995). Kristal kloramfenikol adalah senyawa yang stabil yang cepat diserap dari saluran pencernaan dan luas di distribusikan ke dalam jaringan dan cairan tubuh, termasuk SSP; menembus sel dengan baik. Sebagian besar obat ini tidak aktif di hati melalui konjugasi dengan asam glukuronat. Ekskresi terutama terjadi di urin, 90% dalam bentuk tidak aktif (Jawetz *et al*, 2016). Efek samping serius yang dapat ditimbulkan oleh kloramfenikol adalah kerusakan pada sumsum tulang sehingga penggunaannya dibatasi hanya untuk kasus-kasus tertentu seperti meningitis dan tifus. Selain itu penggunaannya tidak boleh lebih lama dari 2 minggu (Tjay *et al*, 2007). Mekanisme kerja kloramfenikol adalah dengan cara menghambat sintesis protein pada sel bakteri. Kloramfenikol akan berikatan secara reversibel dengan unit ribosom 50S, sehingga mencegah ikatan antara asam amino dengan ribosom (Setiabudy *et al*, 1995; Katzung, 1998).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Niswah (2014) pada ekstrak metanol buah Parijoto dengan menggunakan metode difusi cakram, kontrol positif menggunakan kloramfenikol 30 µg dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 27,33 mm dan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 27, 67 mm, sedangkan pada ekstrak etil asetat buah Parijoto dengan menggunakan metode difusi cakram, kloramfenikol 30 µg dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat 27, 67 mm dan *Escherichia coli* dengan diameter zona hambat 29, 33 mm.

2.6 Tinjauan Aktivitas Antibakteri Senyawa Metabolit Sekunder

2.6.1 Flavonoid

Flavonoid merupakan sub kelompok senyawa polifenol memiliki struktur benzo-y-pyrone yang terdapat pada tanaman yang digunakan untuk infeksi mikroba. Studi epidimiologis telah secara konsisten menunjukkan bahwa asupan tinggi flavonoid memiliki efek protektif terhadap penyakit yang disebabkan bakteri atau virus. Flavonoid merupakan salah satu dari sekian banyak senyawa

metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman, yang dapat dijumpai pada bagian daun, akar, kulit, tepung sari, bunga, dan biji (Lenny, 2006).

Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin merupakan dasar dalam pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Ngajow, 2013). Flavonoid juga berperan dalam menghambat metabolisme energi. Senyawa ini akan mengganggu metabolisme energi dengan cara yang mirip dengan menghambat sistem respirasi, karena dibutuhkan energi yang cukup untuk penyerapan aktif berbagai metabolit dan untuk biosintesis makromolekul (Ngajow, 2013).

2.6.2 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa yang secara umum mengandung paling sedikit satu buah atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Banyak tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan yang setelah di isolasi dengan senyawa nitrogen heterosiklik (Lutfiana, 2013).

Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Juliantina, 2008). Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Gunawan, 2009).

2.6.3 Polifenol

Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini mempunyai tanda khas yaitu banyak gugus fenol dalam molekulnya. Senyawa fenol dalam tanaman dibagi dalam 3 kelompok besar yaitu asam fenol, flavonoid

dan tanin. Flavonoid sebagai bagian dari senyawa polifenol juga mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Kunaepah, 2008). Polifenol alami merupakan metabolit sekunder tanaman tertentu, termasuk dalam atau menyusun golongan tanin. Polifenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan pada suatu pelarut yang berbeda-beda. Hal ini disebabkan oleh gugus hidroksil pada senyawa tersebut yang dimiliki berbeda jumlah dan posisinya (Kunaepah, 2008). Mekanisme penghambatan antibakteri polifenol antara lain adalah dengan cara :

- a) Mengganggu pembentukan dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah, molekul fenol lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein dan dapat melarut pada fase lipid dari membran bakteri.
- b) Bereaksi dengan membran sel. Komponen bioaktif fenol dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Kunaepah, 2008).

2.6.4 Antrakuinon

Antrakuinon merupakan suatu glikosida yang di dalam tumbuhan biasanya terdapat sebagai turunan antrakuinon terhidroksilasi, termetilasi, atau terkarboksilasi. Antrakuinon berikatan dengan gula sebagai o-glikosida atau sebagai C-glikosida. Turunan antrakuinon umumnya larut dalam air panas atau dalam alkohol encer. Senyawa antrakuinon dapat bereaksi dengan basa memberikan warna ungu atau hijau (Harborne, 1987).

Senyawa antrakuinon termasuk golongan kuinon fenolik yang dalam biosintesisnya berasal dari turunan fenol. Kuinon memiliki aktivitas antimikroba yang cukup luas, senyawa tersebut juga dapat membentuk kompleks dengan asam amino nukleofilik dalam protein sehingga dapat membentuk protein kehilangan fungsinya. Kuinon bereaksi dengan protein adesin bulu-bulu sel, polipeptida dinding sel, dan eksoenzim yang dilepaskan melalui membran. Zat antrakuinon merupakan suatu persenyawaan fenolik, sehingga mekanisme kerja sebagai antibakteri mirip dengan sifat-sifat fenol, yaitu menghambat bakteri dengan cara mendenaturasi protein (Putra, 2010).

2.6.5 Triterpenoid

Senyawa triterpenoid termasuk golongan terpenoid yang dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin, mengurangi permeabilitas dinding bakteri sehingga sel bakteri kekurangan nutrisi, pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Haryati *et al.*, 2015)

2.7 Tinjauan Tentang Metode Pengujian Antibakteri

2.7.1 Metode Difusi

Metode ini paling sering menggunakan difusi agar yang digunakan untuk menentukan aktivitas antimikroba. Kerjanya dengan mengamati daerah bening yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode cakram kertas, metode lubang atau sumuran dan metode parit.

2.7.1.1 Metode Cakram Kertas

Prinsip dari metode difusi cakram yaitu obat dijenuhkan ke dalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu di tanam pada media pembenihan agar padat yang telah di campur dengan mikroba yang diuji, kemudian di inkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona hambat atau area bening disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen *et al.*, 2003). Untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (isolat mikroba sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara sebagai berikut (Dzen *et al.*, 2003):

- a) **Cara Kirby Bauer**, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*). Dengan tabel NCCLS dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten.
- b) **Cara Joan-Stokes**, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.

Tabel II.3. Standar Interpretatif Diameter Zona Hambatan dan Nilai Batas (*Breakpoints*) Kadar Hambatan Minimal (KHM) untuk *Enterobacteriaceae* (Patel *et al.*, 2015).

Antibiotik	Kadar Cakram	Diameter Zona Hambat (mm)			KHM (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Kloramfenikol	30 µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8

Keterangan:

R = Resisten

I = Intermediet

S = Sensitif

Tabel II.4. Klasifikasi Respon Hambat oleh Bahan Aktif (Suryawiria, 2005)

Diameter zona hambat	Respon hambatan pertumbuhan bakteri
< 5 mm	Lemah
5 mm – 10 mm	Sedang
10 mm – 19 mm	Kuat
< 20 mm	Sangat Kuat

2.7.1.2 Metode Lubang/Sumuran

Pada lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang itu diisi dengan zat uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Bonang, 1992).

2.7.1.3 Metode Parit

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut berisi zat antimikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu optimum yang sesuai untuk mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambat yang akan terbentuk di sekitar parit (Bonang, 1992).

2.7.2 Metode Dilusi (Pengenceran)

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba. Prinsip dari metode Dilusi Tabung yaitu menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya seri tabung

diinkubasikan pada suhu 37° C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung (Dzen *et al.*, 2003).

Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari obat. Selanjutnya (pada dilusi agar) biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KHM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *et al.*, 2003).

Prinsip metode ini adalah pengenceran antibiotik sehingga diperoleh beberapa konsentrasi obat yang ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat, tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar lalu ditanami kuman dan diinkubasi. Pada metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri atau kuman atau jika mungkin, tingkat kesuburan dari pertumbuhan kuman, dengan cara menghitung jumlah koloni, maka dapat ditentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Jawetz *et al.*, 2012).

2.7.3 Metode Bioautografi

Bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram. Metode tersebut di dasarkan pada aktivitas biologi analit, baik sebagai antibakteri, antifungi, antitumor, maupun antiprotozoa (Choma, 2005). Bioautografi sering digunakan untuk mendeteksi antibiotik yang dapat dianalisis dengan KLT atau kromatografi kertas. Pada umumnya, efek biologi senyawa yang dapat dikatakan menghambat pertumbuhan bukan organisme dinyatakan sebagai zona hambat.

Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antimikrobanya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan dengan merata bakteri uji yang peka. Dari hasil inkubasi pada suhu dan waktu tertentu akan terlihat zona hambatan di sekeliling spot dari KLT yang telah ditempelkan pada media agar. Zona hambatan

ditampilkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terdapat di dalam bahan yang di periksa terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji (Betina., 1972).

Bioautografi dapat dipertimbangkan karena paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba, sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa aktif tersebut terdapat dalam bentuk senyawa kompleks dan dapat pula diisolasi langsung dari komponen yang aktif (Mustary.,2011). Bioautografi dibedakan atas tiga bagian, yakni :

2.7.3.1 Bioautografi Kontak

Bioautografi kontak merupakan senyawa antimikroba dipindahkan dari lempeng KLT ke medium agar yang telah diinokulasikan bakteri uji yang peka secara merata dan melakukan kontak langsung (Dewanjee *et al.*, 2014).

Metode ini didasaekan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) atau kromatografi kertas. Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan di atas permukaan nutrien Agar yang telah di inokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dianalisis. Setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi tersebut dipindahkan dari permukaan medium. Senyawa antimikroba yang telah berdifusi dari lempeng kromatogram ke dalam media agar akan menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi pada waktu dan suhu yang tepat sampai noda menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji tampak pada permukaan membentuk zona yang jernih. Untuk memperjelas digunakan indikator aktivitas dehidrogenase (Dewanjee *et al.*, 2014).

2.7.3.2 Bioautografi Langsung (Deteksi KLT)

Bioautografi langsung merupakan dimana mikroorganismenya tumbuh secara langsung diatas lempeng Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Prinsip kerja dari metode ini adalah suspensi mikroorganisme uji yang peka dalam medium cair disemprotkan pada permukaan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang telah dihilangkan sisa-sisa eluen yang menempel pada lempeng kromatogram. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu (Dewanjee *et al.*, 2014).

Pengeringan kromatogram dilakukan menggunakan hair dryer. Senyawa dalam lempeng kromatogram dideteksi dengan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Setelah diketahui letak dan jumlah

senyawa aktif yang terpisah atau terisolasi, dengan timbulnya noda (spot) pada lempeng KLT, selanjutnya di semprotkan suspensi bakteri uji sebanyak 5-6 ml di atas permukaan lempeng KLT tadi secara merata. Besarnya lempeng KLT yang sering digunakan adalah 20x20 cm dan untuk meratakan suspensi bakteri yang telah disemprotkan dapat menggunakan alat putar atau roller yang dilapisi dengan kertas kromatogram. Lempeng KLT diinkubasi semalam (1x24 jam) dalam box plastik dan dilapisi dengan kertas, kemudian disemprot dengan 5 ml larutan TTC (Triphenyl Tetrazolium Chloride) sejumlah 20 mg/ml serta MTT (2,5 mg/ml) dan selanjutnya diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37° C (Dewanjee *et al.*, 2014).

2.7.3.3 Bioautografi Perendaman

Bioautografi perendaman merupakan Bioautografi yang dimana medium agar telah diinokulasikan dengan suspensi bakteri dituang di atas lempeng Kromatogram Lapis Tipis (KLT). Pada prakteknya metode ini dilakukan sebagai berikut yaitu bahwa lempeng kromatografi yang telah dieluasi di letakkan dalam cawan petri, sehingga permukaan tertutup oleh medium agar yang berfungsi sebagai base layer. Setelah base layernya memadat, dituangkan medium yang telah disuspensikan mikroba uji yang berfungsi sebagai seed layer. Kemudian di inkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai (Dewanjee *et al.*, 2014).

Beberapa modifikasi metode KLT Bioautografi telah ditemukan Nicolous. Menuangkan medium agar berisi 2,3,5 Trifenil Tetrazolium Klorida (TTC) dan ditanami dengan organisme yang diuji di atas kromatogram. Sedangkan kline dan Goalb menyemprotkan medium agar yang lain didinginkan langsung pada permukaan lempeng yang telah disiapkan. Zona inhibisi diidentifikasi setelah di inkubasi, dengan melihat langsung pada lempeng KLT yang tidak tembus cahaya, kemudian di lanjutkan dengan menindihkan lempeng kromatografi pada medium agar pembenihan (Dewanjee *et al.*, 2014).

2.8 Standar Mc. Farland

Standar Mc Farland digunakan untuk standarisasi perkiraan jumlah bakteri yang terdapat dalam larutan suspensi dengan membandingkan kejenuhan dari tes suspensi dengan standar Mc farland. Standar Mc Farland adalah sebuah larutan kimia dari BaCl₂ dan H₂SO₄; reaksi antara kedua reaksi kimia tersebut

menghasilkan lapisan endapan berupa BaSO_4 . Ketika dikocok dengan baik, kejenuhan dari sebuah standart Mc Farland dapat dibandingkan secara visual dengan sebuah suspensi bakteri yang diketahui konsentrasinya seperti tabel dibawah ini :

Tabel II.5. Standar Mc Farland (Anonim, 2014)

Standart Mc Farland	1% BaCl_2 (ml)	1% H_2SO_4 (ml)	Perkiraan suspensi bakteri (ml)
0.5	0.05	9.95	1.5×10^8
1.0	0.10	9.90	3.0×10^8
2.0	0.20	9.80	6.0×10^8
3.0	0.3	9.7	9.0×10^8
4.0	0.4	9.6	1.2×10^9
5.0	0.5	9.5	1.5×10^9
6.0	0.6	9.4	1.8×10^9
7.0	0.7	9.3	2.1×10^9
8.0	0.8	9.2	2.4×10^9
9.0	0.9	9.1	2.7×10^9
10.0	1.0	9.0	3.0×10^9

Sebelum digunakan standar Mc Farland harus di kocok dengan baik dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam tabung reaksi dimana yang digunakan untuk preparasi suspensi inokulum. Sekali dipindahkan secara kuantitatif, tabung reaksi harus di tutup dengan rapat untuk mencegah penguapan yang terjadi. Sebelum digunakan, kocok dengan baik untuk memastikan bahwa BaSO_4 telah berdistribusi secara sempurna dalam larutan tersebut. Standar Mc Farland yang sering digunakan dalam Laboratorium Klinik Mikrobiologi adalah Standar Mc Farland 0.5, dimana standart tersebut merupakan dasar untuk percobaan kerentanan antimikroba dan percobaan hasil biakan media.

Prosedur Kerja :

- Campurkan standar Mc Farland pada vorteks untuk pengujian. Pastikan bahwa standar Mc Farland dipindahkan secara kuantitatif ke dalam tabung reaksi yang memiliki ukuran dan diameter yang sama seperti tabung reaksi yang digunakan untuk persiapan tes suspensi.
- Siapkan sebuah tes suspensi dengan perlakuan segar, biakan bersih dari tes organisme dan inokulasi ke dalam broth yang sesuai.

- c. Kemudian bandingkan secara visual kejenuhan dari tes suspensi dengan standar Mc Farland dengan membandingkan garis kejernihan pada kartu Wickerham.
- d. Apabila hasil tes suspensi tidak terlalu jenuh, maka inokulasi dengan penambahan organisme atau inkubasi tabung reaksi sampai kejenuhannya sesuai dengan standar Mc Farland. Apabila dilusi diperlukan, gunakan pipet steril dan tambahkan broth atau saline yang cukup untuk mendapatkan kejenuhan yang sesuai dengan standar Mc Farland.

2.9 Kombinasi Ekstrak Tanaman

Kombinasi tanaman tradisional atau bahan alami dilakukan untuk meningkatkan efektifitas yang dihasilkan, menurunkan toksisitas yang terjadi dan dapat mendukung aktivitas senyawa utama akibat adanya aktivitas lain dari tanaman kombinasi serta dapat menurunkan dosis pemakaiannya bila dibandingkan dengan pemakaian tunggal (Padalia *et al.*, 2016).

Salah satu tanaman bahan alami yang berpotensi sebagai antibakteri adalah daun asam (*Tamarindus indica* L.) dan daun mimba (*Azadirachta indica* A.). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kurniah (2016) daun asam (*Tamarindus indica* L.) dan daun mimba (*Azadirachta indica* A.) terdapat kandungan senyawa flavanoid, saponin, tanin, dan terpenoid berpotensi sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, pada percobaan ini menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%. Kontrol positif menggunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 0,1% dan kontrol negatif menggunakan aquadest steril. Pembuatan ekstrak campuran digunakan perbandingan 1:1 pada masing-masing konsentrasi. Hasil penelitian didapatkan diameter zona hambat masing-masing sebesar 0,066 mm; 2,018 mm; 3,086 mm; 4,041 mm; 5,04 mm pada ekstrak tunggal daun asam (*Tamarindus indica* L.), pada ekstrak tunggal daun mimba (*Azadirachta indica* A.) sebesar 0 mm; 1,034 mm; 2,046 mm; 3,094 mm; 5,02 mm sedangkan ekstrak campuran daun asam (*Tamarindus indica* L.) dan ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica* A.) sebesar 0,1 mm; 2,026 mm; 5,01 mm; 6,06 mm; 6,01 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa pada ekstrak campuran lebih baik menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

ditunjukkan dengan diameter zona hambat lebih besar dibandingkan dengan ekstrak tunggal daun asam dan ekstrak tunggal daun mimba.

Beberapa produk pengkombinasian tanaman obat sudah cukup banyak dipasarkan termasuk di Indonesia. PT. Jamu borobudur mempunyai beberapa produk seperti salah satunya produk DARSI yang mengandung kombinasi ekstrak *Curcuma Rhizoma Extract*, *Zingiberis aromaticae Rhizoma Extract*, *Zingiberis purpurei Rhizoma Extract*, *Andrographidis Herba Ettract*, *Curcuma domesticae Rhizoma Extract*, *Sappan Lignum Extract*, *Elephantopi Folium Extract*. Produk DARSI diindikasikan untuk mengobati jerawat, bisul, dan gatal-gatal. Produk yang mengandung kombinasi lebih dari dua tanaman dapat meningkatkan efektifitas terapi.

Adapun ada penelitian yang membuktikan bahwa tanaman yang terkandung dalam produk tersebut mampu sebagai antibakteri yang menyebabkan timbulnya jerawat, bisul, dan gatal-gatal. Penelitian dilakukan oleh Gertrudis (2012) bahwa ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan* L) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, dan *Klebsiella pneumonia* ATCC 10031. Sebagai kontrol positif digunakan ampicilin dan siprofloksasin, sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu secang memiliki aktivitas antibakteri dengan menghasilkan diameter zona hambat. *S.epidermidis* dengan konsentrasi 0.1 mg/disc menghasilkan zona hambat 10,33 mm, *P.aeruginosa* ATCC 10145 dengan konsentrasi 0,25 mg/disc menghasilkan zona hambat 9 mm, dan *K. Pneumonia* ATCC 10031 dengan konsentrasi 0,1 mg/disc menghasilkan zona hambat 6,5 mm.

Penelitian dilakukan oleh Mardiana (2011) uji aktivitas antibakteri ekstrak daun sambiloto (*Andrographidis paniculata* Nees.) terhadap *Bacillus cereus* dan *pseudomonas aeruginosa*. Sebagai kontrol positif digunakan amoksisilin, sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO dan menggunakan metode difusi sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto (*Andrographidis paniculata* Nees.) memiliki aktivitas antibakteri dengan menghasilkan diameter zona hambat. *Bacillus cereus* dengan kosentrasi 100%, 75%, 50%, 25% menghasilkan diameter zona hambat berturut-turut 14,75 mm;

12,37 mm; 11,49 mm; 10,68 mm. Sedangkan *pseudomonas aeruginosa* menghasilkan diameter zona hambat berturut-turut 15,69 mm; 13,60 mm; 12,66 mm; 10,49 mm.

Penelitian dilakukan oleh Nestri (2012), Isolasi identifikasi komponen dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) telah dilakukan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* dengan metode difusi sumuran sedangkan kontrol positif digunakan amoksisilin. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) memiliki aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 0,25% dengan diameter zona hambat 6,69 mm untuk *Pseudomonas aeruginosa*, dan 0,075% dengan diameter zona hambat 6 mm untuk *Salmonella typhi*.

Penelitian dilakukan oleh Warnani (2013), uji aktivitas ekstrak kunyit (*Curcuma domestica val*) terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus sp* dan *Shigella dysenteriae* dengan metode *disc diffusion* sedangkan kontrol positif digunakan Amoksilin dan Chloramphenicol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya efektivitas ekstrak kunyit pada konsentrasi 15%, 30%, 50%, 75%, dan 100% terhadap *Bacillus sp* dengan zona hambat sebesar 11 mm, 12,3 mm, 13,3 mm, 13,7mm, dan 14,7 mm. Sedangkan *Shigella dysenteriae* dengan zona hambat sebesar 10,3 mm, 11,7 mm, 12,3 mm, 13,3 mm, dan 14,0 mm. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan konsentrasi ekstrak kunyit menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus sp* dan *Shigella dysenteriae* termasuk kategori hambatan lemah.